

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-330794

(43) 公開日 平成7年(1995)12月19日

| (51) Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
|---------------------------|-------|---------|-----|--------|
| C 0 7 K 14/415 | | 8318-4H | | |
| A 2 3 L 3/3526 | 5 0 1 | | | |
| C 1 2 N 9/99 | | | | |

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平6-146983

(22) 出願日 平成6年(1994)6月7日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成6年4月1日～
4月4日 社団法人日本農芸化学会主催の「日本農芸化
学会 1994年度大会」において文書をもって発表

(71) 出願人 000162412

協同乳業株式会社

東京都中央区日本橋小網町17番2号

(72) 発明者 谷 久典

東京都福生市本町31-22 リバーハウス
203

(72) 発明者 大石 一二三

東京都練馬区関町東1-26-7-303

(72) 発明者 渡辺 乾二

愛知県名古屋市緑区桃山三丁目601番地

(74) 代理人 弁理士 石山 博 (外1名)

(54) 【発明の名称】 小麦由来リパーゼインヒビター

(57) 【要約】

【目的】 小麦由来蛋白質性新規リパーゼインヒビター
に関する。

【構成】 哺乳類腸管由来リパーゼを特異的に阻害する
ことを特徴とする小麦由来リパーゼインヒビター。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 哺乳類腸管由来リパーゼを特異的に阻害することを特徴とする小麦由来リパーゼインヒビター。

【請求項2】 分子量が25,000、等電点が7.1及び6.9付近で、N末端からの残基のアミノ酸配列が、Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Gln-Proであることを特徴とする請求項1記載の小麦由来リパーゼインヒビター。

【請求項3】 分子量が28,000、等電点が6.7付近で、N末端からの残基のアミノ酸配列が、Arg-Ala-His-Glu-Glu-Gln-Gln-Hisであることを特徴とする請求項1記載の小麦由来リパーゼインヒビター。

【請求項4】 pH3から7及び60℃並びに80℃で60分間の加熱で安定な、約 1.229×10^{-4} MのKm値を有する請求項1、2及び3のいずれかに記載の小麦由来リパーゼインヒビター。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は小麦由来蛋白質性新規リパーゼインヒビターに関する。

【0002】

【従来の技術】 従来、リパーゼインヒビターの存在は知られており、また食品の劣化防止としても用いられている（例えば特開平3-219872号公報参照）。しかし現在までに知られているリパーゼインヒビターは、直接的にリパーゼと反応して阻害活性を示すものではなく、基質と会合することにより、阻害活性を示すものである。そのために多量のインヒビターが必要である。またin vitro（生体外での）系において、リパーゼインヒビター効果を示すが、in vivo（生体の内部での）系において、充分なリパーゼインヒビター効果を示さないものであつた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは、リパーゼと反応するリパーゼインヒビターを小麦種子中から得るべく検討を重ねた結果、この発明を完成した。

* 【0004】

【課題を解決するための手段】 すなわちこの発明は哺乳類由来リパーゼに特異的に作用する小麦由来蛋白質性新規リパーゼインヒビターに関するものであり、本物質により、生体の内部での系においても、少量で充分なリパーゼインヒビター効果を示すものである。

【0005】

【作用】 この発明においては、小麦種子から抽出された蛋白質のうち、哺乳類由来リパーゼと相互作用をなし、その酵素活性を直接的に阻害する物質を集め、そのものの分子量、等電点、N末端からの残基のアミノ酸配列及びKm値を決定した。さらに熱及びpH安定性、各種リパーゼに対する作用に関して検討を加えた。

【0006】

【実施例】 エタノール処理した小麦粉から抽出された蛋白質を、豚膵液由来リパーゼを固定化したリパーゼ・セフアローズ4Bカラムに吸着させ、0から1Mまでの塩化ナトリウムの直線的濃度勾配法により溶出させた。0.7M濃度付近に、リパーゼインヒビター活性を示すピークが検出された。

【0007】 この部分の2次元電気泳動により、3つのリパーゼインヒビター活性を示すものが得られた。それぞれをLI-Ea-1-1、LI-Ea-1-2及びLI-Ea-1-3とし、これらの分子量及び等電点を表1に示した。

【0008】

【表1】

| No. | 分子量 | 等電点(pI) |
|-----------|--------|---------|
| LI-Ea-1-1 | 25,000 | 7.1 |
| LI-Ea-1-2 | 25,000 | 6.9 |
| LI-Ea-1-3 | 28,000 | 6.7 |

【0009】 これらについて、N末端から残基までのアミノ酸配列を決定し、表2に示した。

【0010】

【表2】

| 物質番号 | N末端からのアミノ酸配列 | | | | | | | | |
|-----------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| LI-Ea-1-1 | Arg | Ser | Ala | His | Glu | Pro | Glu | Gln | Pro |
| LI-Ea-1-2 | Arg | Ser | Ala | His | Glu | Pro | Gln | Gln | Pro |
| LI-Ea-1-3 | Arg | Ser | Ala | His | Glu | Glu | Gln | Gln | His |

【0011】 次に60℃及び80℃の加熱による安定性及びpHによる安定性の検討を行ない、図1及び図2にその結果を示した。60℃及び80℃で60分間の加熱においても、リパーゼインヒビター活性が維持され、またpH3から7の範囲で安定であつた。

【0012】 各種リパーゼに対する阻害効果を表3にまとめた。

【0013】

【表3】

| リパーゼ | 活性率 |
|---------------------------------|------|
| 豚膵液由来 | 1293 |
| <i>Candida cylindracea</i> | 612 |
| <i>Rhizopus arrhizus</i> | 0 |
| <i>Chromobacterium viscosum</i> | 0 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | 0 |

なおリパーゼインヒビター活性は重量 (mg) 当りの活性で示した。

【0014】*Candida cylindracea*以外の微生物に対しては阻害活性は示さなかつた。哺乳類(豚膵液)由来リパーゼに対しては、強い阻害活性を示した。この物質のカイネティクスの検討を行なつたところ、 K_m は 1.229×10^{-4} Mであつた。

【0015】

【発明の効果】この発明に係る小麦由来リパーゼインヒビターは、分子量、等電点、アミノ酸配列、哺乳類腸管由来リパーゼを特異的に阻害すること、熱及びpH安定性並びに K_m 値により、現在までに知られている蛋白質性リパーゼインヒビターとは異なつた新規なリパーゼ

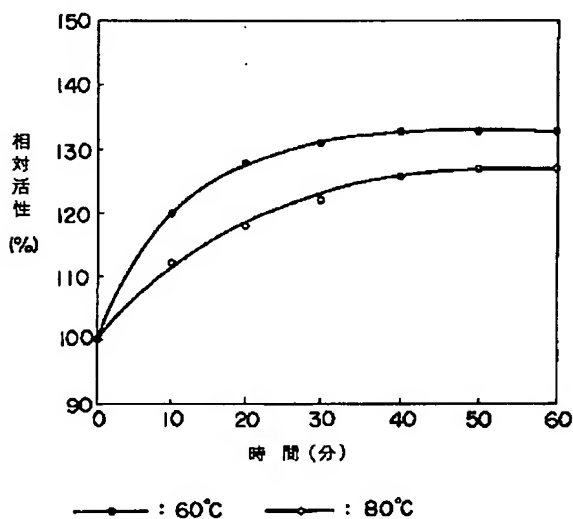
インヒビターである。更にこの発明の物質はリパーゼと直接的に作用して、阻害活性を示すことから、生体外での系並びに生体の内部での系においても、リパーゼ以外の物質に作用を及ぼすことなく、少量で充分なりパーゼインヒビター活性を示すことができるものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の物質の60℃及び80℃の加熱による安定性を示すグラフである。

【図2】この発明の物質のpHによる安定性を示すグラフである。

【図1】



【図2】

